

# 纳米尺度物质的生物效应和安全性\*

庞小峰<sup>1,†</sup> 张怀武<sup>2</sup> 邓波<sup>1</sup> 赵强<sup>1</sup> 刘乐维<sup>1</sup> 漆婷<sup>1</sup> 曾宝清<sup>3</sup> 胡文成<sup>2</sup>

(1 电子科技大学生命科学与技术学院纳米科学研究室 成都 610054)

(2 电子科技大学微电子与固体电子学院 成都 610054)

(3 电子科技大学物理电子学院 四川 成都 610054)

**摘要** 纳米尺度的物质包括碳纳米管、纳米二氧化碳、纳米三氧化铁和四氧化三铁等,它们与包括氨基酸在内的生物分子和细胞以及动物整体的相互作用受到广泛关注和研究.结果表明这些纳米材料都能和这些生物成分和生物体相互作用,具有明显的生物效应,能够影响生物分子的结构或构象、细胞的生长,且它们的毒性都较小.但从我们获得的资料看,有些纳米物质对生物的整体特性和人的健康有较重的影响.这是我们应该引起严重注意的.

**关键词** 纳米尺度物质,生物效应,细胞,生物分子,动物,繁殖

## Biological effects of nanomaterials and its securities

PANG Xiao-Feng<sup>1,†</sup> ZHANG Huai-Wu<sup>2</sup> DENG Bo<sup>1</sup> ZHAO Qiang<sup>1</sup>

LIU Le-Wei<sup>1</sup> QI Ting<sup>1</sup> ZENG Bao-Qing<sup>3</sup> HU Wen-Cheng<sup>2</sup>

(1 NanoScience Lab., College of Life Science and Technology, 2 College of Microelectronics and solid-state electronics and

3 College of physical Electron, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054)

**Abstract** The interactions of nanomaterials such as carbon nanotubes, nanoTiO<sub>2</sub>, nanoFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and nanoFe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> with biomolecules including amino acids, cells and biological bodies have been studied by the methods of molecular and cellular biologies, respectively. The results obtained show that these nanomaterials can all influence the proliferation of the cell and structures or conformations of the biomolecules, while their toxicity is lower. However, the influence of some nanocorpuscles on the hearts of animals is considerable, which should be given serious consideration.

**Keywords** biological effect, nanomaterial, cell, biomolecules, animals, prplification

## 1 引言

自从1991年Iijiman等人制造成功纳米碳管以来,在国际上掀起了研究纳米材料和纳米器件的高潮.各种各样的纳米材料不断制取出来,而且生产纳米材料的工厂像雨后春笋般地建立起来.据不完全统计,短短几年内仅在我国每年能生产近千万吨纳米材料的工厂就已建立起几千家.人们把尺寸小于100nm的物质定义为纳米颗粒,由几十个到几百个原子或分子组合在一起形成的纳米颗粒是有小尺寸

效应、表面效应、界面效应和量子隧道效应四大效应<sup>[1-4]</sup>.由这些效应可导致异常的吸附能力,化学反应能力,分散与团聚能力,在不同介质中的溶解性,热学性能,光催化性能和表面活性等.由于它颗粒小,体积/表面积之比极小,其特性与大块的材料有明显区别.有些纳米材料具有极其奇特性能而广泛运用于工业、农业、医疗、科学研究和食品卫生等方面<sup>[1-3]</sup>.但正是因为它的尺寸比空气中的灰尘还小,

\* 国家自然科学基金(批准号 90306015)资助项目

2005-06-15 收到初稿 2005-10-08 修回

† 通讯联系人. Email: pangxf@mail.sc.cninfo.net

人们必然想到生活在产地和供用的场所的人每天要吸入大量的纳米颗粒,至此人们就自然要问吸入人体的纳米材料是否对人的健康会造成严重影响?这是值得我们深思,而我们的政府必须考虑的问题。

另一方面,现已证明空气中的灰尘和汽车的尾气等包含有大量的纳米颗粒,人们每天都要吸入不少的尘埃,特别在环境条件极差的地方更是如此。这就迫使我们想知道,这些纳米颗粒会不会严重影响人的健康?如果有影响,到底是什么样的影响?是否它与一些疾病或某些癌症有联系?这都是我们必须深入研究的重大问题,对于此问题决不能忽视。应当说,纳米级的不同颗粒对人体和动物的影响是肯定的,而我们今天讲的空气质量和环境的好坏主要是指空气中微米级的尘埃的多少。实际调查表明人的寿命长短和是否生病是与吸入的纳米级颗粒的多少有直接关系的。环境质量差的矿山的开矿和制造纳米材料的工厂都会造成各种疾病是众所周知的事实,而其根源就是纳米颗粒造成的。

国家很重视这些方面,也看到了这个问题的的重要性,在2004年11月由中国科学院主持召开了一次全国性讨论“纳米尺寸物质的生物效应及毒性(安全性)”的第243次香山会议。与会专家一致认为此问题的研究关系到未来纳米材料、纳米器件及纳米技术的健康发展,关系到我们生活的环境,关系到人们的健康,具有非同寻常的重大科学意义和实际价值。

但如何去研究纳米颗粒的生物效应与毒性呢?如我们所知,大多数纳米颗粒都是通过鼻和口腔及皮肤等进入人体或动物的血液系统,再输送到全身的。这就是说纳米对人和动物作用的主要和直接靶子是血液、肺、皮肤和一些器官。

## 2 纳米尺寸物质的生物效应

### 2.1 纳米材料与细胞的相互作用及其效应和毒性

我们首先制备了碳纳米管和评价它对细胞的效应。经过通氢气、氮气和乙炔于高温管式电阻炉(KXG-L-12A)型中,在二茂铁的催化下,温度控制仪(KXD-S)型控制反应温度于700℃,反应15分钟,得到碳纳米管粗品。氢氟酸洗涤以除去产物中的杂质铁,过滤后真空干燥得到碳纳米管样品。采用高功率微波加热的方法,也可以得到类似的碳纳米管材料。通过扫描电子显微镜(SEM)分别观测了不同碳纳米管的微观图像,可以看到纳米级碳材料呈

管状,其管径约50—100nm。用美国 Nicolet FT-IR 870 型傅里叶变换红外光谱仪(分辨率 $1\text{cm}^{-1}$ ,波数范围 $4000\text{—}400\text{cm}^{-1}$ ,DTGS 检测器<sup>[5-7]</sup>,扫描32次)测量了碳纳米管的红外光谱,如图1(a)所示。为比较它的光谱的改变,我们同时测定了金刚石和石墨的红外散射谱,如图1(b)所示。从图1可以看到碳纳米管的红外散射谱与石墨的基本相似,与金刚石的差别较大。同时测量了在室温下它的热导率大约为 $5\text{—}6\text{kW}/(\text{mK})$ ,但金刚石的为 $3.32\text{ kW}/(\text{mK})$ 。

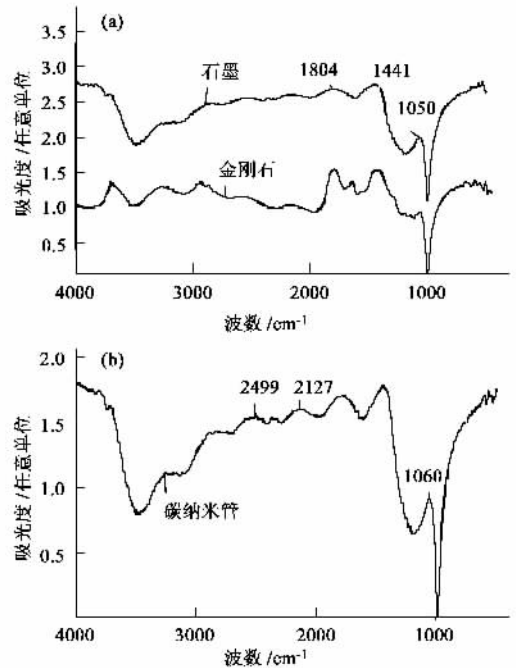


图1 碳纳米管、石墨和金刚石的红外光谱图

我们制备了两种纳米氧化钛样品,其中一种材料的尺寸是100nm,另一种为1000nm,其红外光谱如图2所示,并分别用材料1和材料2表示。从图2中可以看到纳米材料的尺寸效应还是非常明显的<sup>[5,8-10]</sup>。

我们用MTT法评价三种纳米材料(碳纳米管和以上两种纳米氧化钛)对细胞的毒性<sup>[11-13]</sup>。采用的主要试剂与仪器为:RPMI1640培养基,小牛血清,噻唑蓝,二氧化碳孵育箱,倒置显微镜,酶联免疫检测仪等。我们先进行材料浸提液的制备,再用其培养L-929小鼠成纤维细胞,待细胞培养后,进行MTT比色试验,用酶联免疫检测仪测定光密度(OD)值。试验数据用统计学方法进行处理。计算各试样的细胞相对增殖率(RGR),用以评价三种材料的细胞毒

表1 细胞的吸光度值 相对增殖率及毒性评级\*

| 组       | 24 小时                   |            |    | 48 小时                   |            |    |
|---------|-------------------------|------------|----|-------------------------|------------|----|
|         | 光密度值( $\bar{X} \pm S$ ) | 相对增殖率( % ) | 得分 | 光密度值( $\bar{X} \pm S$ ) | 相对增殖率( % ) | 得分 |
| 100% T1 | 0.297 ± 0.007           | 98.3       | 1  | 0.309 ± 0.01            | 90.6       | 1  |
| 50% T1  | 0.298 ± 0.006           | 98.8       | 1  | 0.320 ± 0.003           | 93.8       | 1  |
| 25% T1  | 0.299 ± 0.007           | 99.0       | 1  | 0.327 ± 0.008           | 95.9       | 1  |
| 100% T2 | 0.276 ± 0.007           | 91.4       | 1  | 0.307 ± 0.007           | 90.0       | 1  |
| 50% T2  | 0.286 ± 0.003           | 94.7       | 1  | 0.319 ± 0.003           | 93.5       | 1  |
| 25% T2  | 0.294 ± 0.009           | 97.4       | 1  | 0.325 ± 0.008           | 95.3       | 1  |
| 100% T2 | 0.279 ± 0.007           | 92.4       | 1  | 0.323 ± 0.01            | 94.7       | 1  |
| 50% T2  | 0.287 ± 0.009           | 95.0       | 1  | 0.323 ± 0.01            | 94.7       | 1  |
| 25% T2  | 0.295 ± 0.01            | 97.7       | 1  | 0.336 ± 0.004           | 98.5       | 1  |
| 空白      | 0.302 ± 0.009           | 100        | 0  | 0.341 ± 0.009           | 100        | 0  |

\* T1 为纳米级氧化钛材料浸润液 ,T2 为微米级氧化钛材料浸润液 ,T3 为纳米级纳米管材料浸润液 ,100% 表示浸润原液 ,50% 表示对倍稀释浸润原液 ,25% 表示四倍稀释浸润原液.

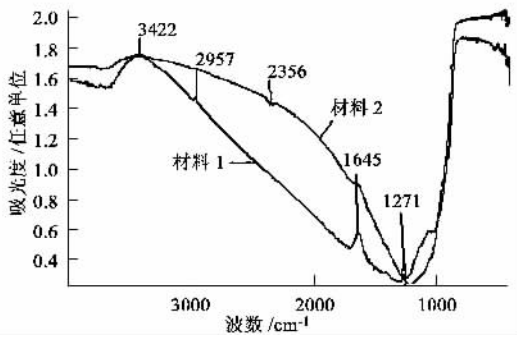


图2 纳米氧化钛的红外吸收谱

性分级.  $RGR = \text{实验组 OD 值} / \text{对照组 OD 值} \times 100\%$  ,最后根据 RGR 值评定材料毒性程度见表 1. 这三种纳米材料的细胞毒性都较弱.

用 MTT 比色分析技术研究了纳米氧化钛对人肝细胞(L-02 细胞株)的影响. 结果如下 (1)从对实验组样品的 MTT 比色测量结果来看 ,纳米氧化钛对细胞增殖的影响不明显 (2)纳米氧化钛呈色后 ,显微观察 ,对照组呈色较浓 ,其细胞数量较多. 推测可能是纳米氧化钛游离于细胞之间 ,阻碍了胞间通信 ,从而降低了细胞的生长速度. 当然 ,对纳米毒性的评价还可以用流式细胞仪等进行进一步的检测来加以证实.

我们制备了纳米氧化铁和纳米羟基氧化铁<sup>[5,14]</sup> .取一定量的三氧化铁用双蒸水溶解 ,在搅拌下迅速加入氨水或氢氧化钠溶液得到氢氧化铁沉淀 ,调节溶液 pH 值后转移至高压反应釜中 ,在

240℃ 反应 4 小时后即可得到纳米氧化铁或纳米羟基氧化铁. 经洗涤、高速离心、真空干燥后得到样品. 用 SEM 测定了纳米氧化铁和纳米羟基氧化铁的粒径为 30—70nm ,呈球形. 用上述仪器测量了它们的红外光谱 ,见图 3. 从图可知在 556cm<sup>-1</sup>、478cm<sup>-1</sup> 观测到了氧化铁的特征吸收峰 ,但羟基氧化铁在 556cm<sup>-1</sup> 处没有吸收.

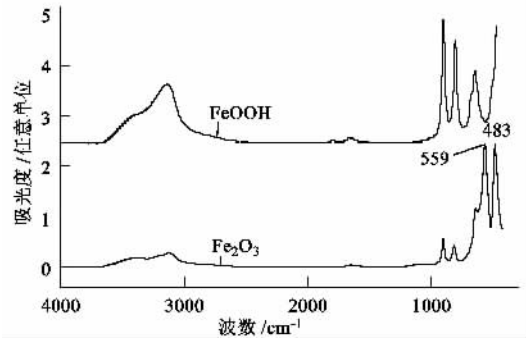


图3 纳米氧化铁和羟基氧化铁的红外光谱

我们又用 MTT 法评价了纳米氧化铁及纳米羟基氧化铁的细胞毒性 ,二类纳米材料均呈现出高的细胞相对增殖率 ,其细胞毒性为 1—2 级. 具体见表 2.

北京大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系的李光<sup>[15]</sup> 应用体外实验研究多壁碳纳米管(MWNTs)对豚鼠肺泡巨嗜细胞的细胞毒性、尺寸效应和剂量效应. 实验用的 MWNTs 的直径范围是 10—20nm( MWNT10 )、40—60nm( MWNT40 )、60—100nm( MWNT60 ). 结果发现不同直径 MWNTs 具有非常不同的细胞毒性和生物活性. 他们首次从实验证明了 MWNTs 的细胞毒性与其尺寸(直径)效应和

表 2 细胞的吸光度值 相对增殖率及毒性评级\*

| 组       | 24 小时                   |            |    | 48 小时                   |            |    |
|---------|-------------------------|------------|----|-------------------------|------------|----|
|         | 光密度值( $\bar{X} \pm S$ ) | 相对增殖率( % ) | 得分 | 光密度值( $\bar{X} \pm S$ ) | 相对增殖率( % ) | 得分 |
| 100% T1 | 0.823 ± 0.072           | 81.6       | 1  | 0.981 ± 0.075           | 73.5       | 2  |
| 50% T1  | 0.903 ± 0.052           | 89.6       | 1  | 1.109 ± 0.049           | 83.1       | 1  |
| 25% T1  | 0.943 ± 0.083           | 93.6       | 1  | 1.228 ± 0.041           | 92.1       | 1  |
| 100% T2 | 0.81 ± 0.044            | 80.4       | 1  | 0.996 ± 0.046           | 74.7       | 2  |
| 50% T2  | 0.893 ± 0.067           | 88.6       | 1  | 1.191 ± 0.047           | 89.3       | 1  |
| 25% T2  | 0.943 ± 0.116           | 93.6       | 1  | 1.261 ± 0.05            | 94.5       | 1  |
| 空白      | 1.008 ± 0.105           | 100        | 0  | 1.334 ± 0.76            | 100        | 0  |

\* T1 为纳米氧化铁材料浸润液 ,T2 为纳米羟基氧化铁材料浸润液

剂量效应之间的关系 ,即大直径 MWNTs 比小直径 MWNTs 可致更严重细胞毒性. 用 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$  浓度 MWNT40 和 MWNT60 孵育的 AM ,其吞噬能力有部分损伤. 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$  的 MWNTs 处理的 AM 有凋亡特征表现. 他们还研究了单壁碳纳米管、多壁碳纳米管和富勒烯对豚鼠肺巨嗜细胞的细胞毒性和吞噬功能的影响. 结果表明单壁碳纳米管和多壁碳纳米管均有明显细胞毒性 ,并呈剂量反应关系. 他们还探讨了纳米铁对小鼠血清生化指标的影响. 按照剂量( 5 g/kg )法以纯铁粉和纳米铁粉依次经口灌胃. 14 天后脱髓处死. 分别测定肝 - 肾脏器系数和血清生化指标的变化. 实验小鼠全部存活. 对照组、纯铁粉和纳米铁粉组的肝脏系数分别为 0.0493 ± 0.0062 , 0.0577 ± 0.0048 和 0.0549 ± 0.0041 ,纯铁粉和纳米铁粉组的肝脏系数明显高于对照组(  $P < 0.05$  ). 对照组、纯铁粉组和纳米铁粉组 UIBC( 总铁结合力 )和 TIBC( 未饱和铁结合力 )分别为 12.65 ± 9.82 和 77.50 ± 7.19 $\mu\text{mol}/\text{L}$  ,35.03 ± 34.79 和 85.38 ± 15.33 $\mu\text{mol}/\text{L}$  及 8.93 ± 7.39 和 71.67 ± 11.87 mol/L ,与对照组相比纳米铁粉组血清 UIBC 和 TIBC 水平无明显差异 ,而纯铁粉组血清 UIBC 和 TIBC 与对照组相比有明显升高 ;纳米铁粉组血清 Glu 水平比对照组和纯铁粉组有明显降低 ,纳米铁粉组血清 TBIL 比对照组也有明显降低 ,而纯铁粉组 TBIL 与对照组相比则无显著差异. 纯铁粉组和纳米铁粉组血清 LDH、TBA 均比对照组有明显降低 ;其纳米铁粉组血清 BUN 明显高于纯铁粉组的值 ,而它的血清的 Cr 水平明显低于纯铁粉组 ,但与对照组相比无明显差异. 因此 ,纳米铁材料基本无毒 ,但其在吸收、代谢方面可能具有特殊性 ,在生化毒性方面与一般铁材料有所不同.

上述结果表明这些纳米材料都能和这些生物细

胞相互作用 ,具有明显的生物效应 ,能够影响细胞的生长 ,但它们的毒性都是较小的.

## 2.2 纳米材料与氨基酸、蛋白质和 DNA 分子相互作用的效应

我们从美国 Sigma 公司购买了 20 种氨基酸晶体材料<sup>[5]</sup>. 将氨基酸晶体磨成粉末后与上述纳米材料在水溶液中混合 ,然后降低温度进行重结晶. 在光镜下观测结晶的形态 ,并与对照组相比较. 对照组不加纳米材料 ,其他条件相同. 图 4 给出了谷氨酸和甘氨酸晶体及掺杂纳米氧化铁后的光学显微照片. 通过比较看出加了纳米材料的氨基酸分子结构形态的显微照片明显不同于对照组. 显然这是由于氨基酸分子与纳米材料存在相互作用造成的差别. 图 5 给出了谷氨酸和甘氨酸晶体及掺杂纳米氧化铁后的红外光谱图. 可以看到掺杂纳米氧化铁的氨基酸晶体红外光谱图的个别峰位置发生移动、峰值的强度发生改变并有峰的消失和新峰的出现 ,这说明了纳米材料和氨基酸分子发生了相互作用.

我们测试纳米氧化硅与胶原蛋白分子相互作用的效应<sup>[5]</sup>. 用生理盐水把 800—900nm 氧化硅配置成 50mg/mol 的悬浮液 ,用气管注射法 ,注入到每只大鼠中. 对照组不进行注入. 饲养 2 个月取出肺脏 ,进行病理检查. 发现实验组大鼠有明显的矽肺结节出现. 按照 Kathryn 法分别从实验组和对照组提取胶原 ,并进一步纯化获得 I 型胶原 ,再将提取的胶原蛋白用 1mol 的醋酸溶液透析 ,直到用硝酸银溶液检测不到  $\text{Cl}^{-1}$  为止. 将样品真空冷冻箱内 ,干燥 ,并在 -20 $^{\circ}\text{C}$  保存 5 天 ,用上述方法进行红外光谱测定. 通过对照发现在低波数范围内被氧化硅注射的小鼠有多个明显的可变谱线出现. 在 1000—1800 的波数范围内 ,谱线强度普遍降低 ,并有一些强度较小的峰出现. 同时实验组大鼠的疏水峰值增强 ,表明疏

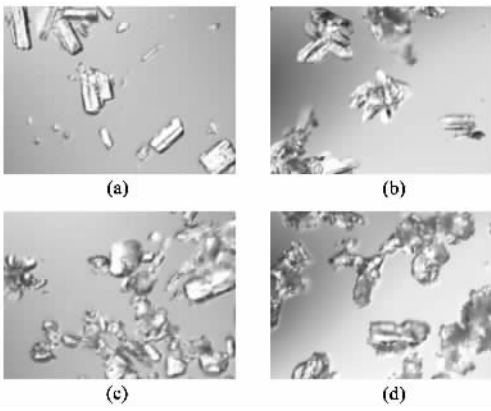


图4 氨基酸结晶的光学显微镜图 (a)谷氨酸晶体光学显微镜图(×100) (b)谷氨酸-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 晶体光学显微镜图(×100) (c)甘氨酸晶体光学显微镜图(×100); (d)甘氨酸-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 晶体光学显微镜图(×100)

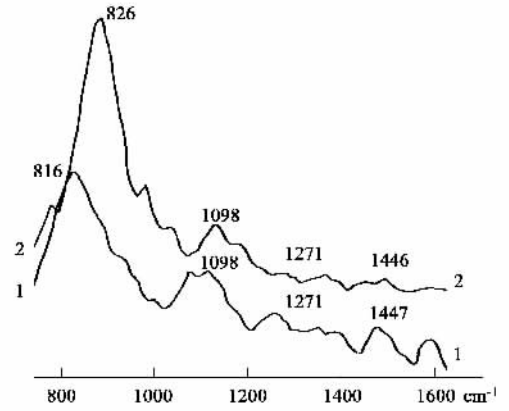


图6 氧化硅对肺切片胶原纤维的红外光谱的影响(1 - 正常大鼠的结果 2 - 矽肺大鼠的结果)

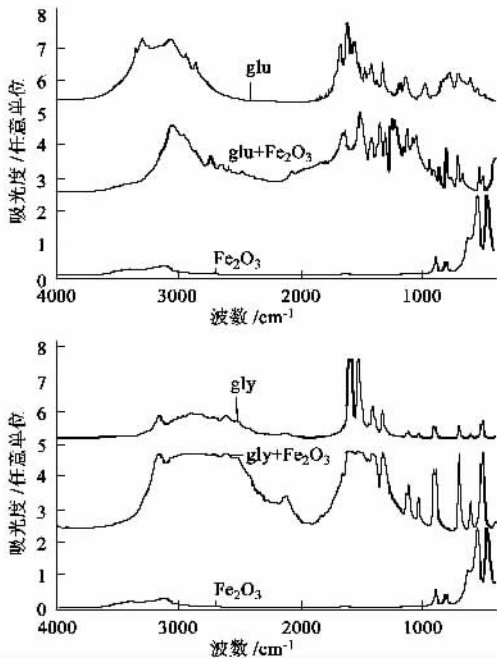


图5 氨基酸结晶的红外光谱图

水 CH 侧链活性增加。通过对实验组小鼠肺组织胶原纤维内部和表面的红外光谱测定后发现,纤维边缘部分的红外吸收谱较纤维内部的增加,说明胶原内部的分子结构与外部明显不同,表明外界环境对胶原分子结构有较大影响,如图6。

中国科学院高能物理研究所纳米生物效应实验室邢更妹<sup>[16]</sup>在富勒烯和 DNA 相互作用的研究中,发现在黑暗条件下,将富勒烯和 DNA 加酶一起温浴,随着温度的升高 DNA 发生了降解,没有位点的特异性,而将金属富勒烯 Gd@C<sub>82</sub> 与 DNA 加酶在

37 °C 条件下一起温浴,小分子量 DNA 条带的降解十分明显,而这种降解对光也没有依赖型,通过对比还发现金属富勒烯对 DNA 的切割效应更加明显,我们推测 DNA 在有酶存在的系统对 DNA 的切割与没有酶的系统是不同的,并且这种切割对富勒烯的结构也有一定的依赖型。

上述结果表明这些纳米材料都能与氨基酸、蛋白质和 DNA 分子相互作用,具有明显的生物效应,能够影响生物分子的结构或构象,对一些氨基酸、蛋白质和 DNA 分子有较大影响。

### 2.3 纳米材料与生物体或动物相互作用的效应研究

如我们所知,大多数纳米颗粒都是通过鼻和口腔进入人体或动物的血液系统,再输送到全身的。这就是说纳米对人和动物作用的主要和直接靶子是血液。血液在体内承担起向各个组织输送氧气和营养以及输出 CO<sub>2</sub> 的重要功能,在生命活动中起着重要作用。它的变化不但影响它本身的性质和功能,也能影响其他生物组织的特性和功能。人体或生物与材料有直接接触的过程,有可能导致纳米颗粒对生物的物理损伤,如它进入体内并参与同血液中的蛋白质如人(或牛)血清蛋白,红细胞,白细胞及血红蛋白等反应,就可能引起组织器官损伤。因此研究纳米颗粒对血液的流变特性,输氧送 CO<sub>2</sub> 的能力,生物免疫指标和血常规指标的影响便成了我们研究的重点。如果把这些问题弄清楚了,则能大概或清楚的知道纳米材料对人体或动物健康的影响及其特性。于是研究此课题的目的就是要找到纳米颗粒对血液的影响是什么?它的生物毒性是怎样的情况?用什么指标来标记或测量它的生物效应和毒性;纳米颗粒

与血液中的蛋白质和细胞的作用机理及特点是什么,等等问题.如果这些问题得到解决,我们便能知道纳米材料的生物效应的基本特征和规律.这对于我们正确认识纳米物质的基本特征有极大的推动作用.这也有助于去探索一些疾病如血栓、血凝固等的产生机理和特性,从而可以使我们寻找防护这些疾病的方法和手段,对我们的环境保护,保护人类的健康及安康生活也有极大作用.因此研究这些问题不但具有重要的实用价值,而且具有重要的科学意义.

在美国进行的这项长期人群调查结果显示,人生活周围空气中  $2.5\mu\text{m}$  颗粒每增加  $10\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,总死亡率增加 7%—13%.世界卫生组织(WHO)组织专家对已有的实验数据进行分析发现(1)周围空气  $10\mu\text{m}$  的颗粒每增加  $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,死亡率增加 6%—8%,但是当周围空气  $2.5\mu\text{m}$  的颗粒每增加  $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,死亡率却增加 12%—19%(2)周围空气  $10\mu\text{m}$  的颗粒每增加  $50\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,住院病人增加了 3%—6%,周围空气  $2.5\mu\text{m}$  的颗粒每增加  $50\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,住院病人增加了 25%(3)周围空气  $10\mu\text{m}$  的颗粒每增加  $25\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,哮喘病人病情恶化和使用支气管扩张器的百分比将增加 8%,咳嗽病人将增加 12%.伦敦大雾是一个众所周知的例子,这场大雾之后,两周内伦敦有多人突然死亡.科学家分析研究的结果,认为主要是空气中细小的纳米颗粒大量增加造成的.目前,细小颗粒物导致疾病的发病率和死亡率增加的机理还不清楚.但是科学家们推测,大气颗粒物中小于 100nm 超细颗粒物具有特殊生物机制,并起关键作用,它们在肺组织中的沉积效率很高;另一种推测是,小于 100nm 的超细颗粒物可能直接作用于心脏,直接导致心血管疾病;也有人假设是它可以增加血粘度或血的凝固能力,导致心血管疾病<sup>[17]</sup>.

我们<sup>[18]</sup>使用纳米 Ni-Zn 铁氧体磁性粉末与生理盐水以  $1\text{mg}/\text{ml}$  配成悬浮液尾静脉注射进大鼠体内,对照组注射生理盐水.8 天后取血分别做血常规、肝肾功能的生化指标(谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、血液粘度测试;同时取部分抗凝血提取血红蛋白和血浆总蛋白做红外光谱测试.结果看出,大鼠经 4 次注射后,绝大多数指标都有不同程度的改变,其中实验组的白细胞数升高较为明显( $P < 0.05$ ),两组间的红细胞数也具有显著差异,实验组的红细胞数显著少于对照组( $P < 0.01$ ).这很可能是由于机体的造血功能受所注射的材料的抑制或者是溶血现象的出现所致.从血红蛋白的红外吸收光

谱图的对照组和实验组的平均值比较中可以看到,实验组的吸收峰中的 4 个峰值的频率发生了红移,而有两个峰值的频率发生了蓝移;同时,它的 6 个吸收峰的强度明显低于对照组,但吸收峰  $1117.39\text{cm}^{-1}$  的强度大大高于对照组.这结果表明了纳米颗粒显著地改变了血红蛋白的分子结构或构象,具体说可能是纳米颗粒影响了蛋白质分子中氨基酸残基的电偶极矩的改变.

中国医学科学院基础医学研究所的许海燕曾研究过纳米拓扑结构对血浆蛋白和血液细胞的作用<sup>[19]</sup>.她和她的同事们采用 SEM、XPS、ELISA 等分析方法研究了血浆中三类主要的蛋白分子(纤维蛋白原、白蛋白、免疫蛋白分子)在碳纳米管表面的吸附行为,研究结果显示,单壁碳纳米管无纺膜对血浆蛋白具有不同于其他碳材料的吸附性能,对血浆中的纤维蛋白原分子具有强烈的吸附性,但对白蛋白分子几乎没有吸附.纤维蛋白原是第 I 凝血因子,在通常情况下,当材料表面吸附了大量的纤维蛋白原分子后,会很快引起后续的血小板的明显黏附和聚集,并最终形成血栓.但是 SEM 和 FCM(流式细胞分析)的结果显示,吸附了血浆蛋白的单壁碳纳米管无纺膜没有引起血小板的明显黏附和活化,对血小板的激活程度远远低于目前心血管系统中所用的生物材料,这表明单壁碳纳米管对血小板呈现出不同于微米尺寸材料的优异的相容性.

中国科学院高能物理研究所生物效应实验室的赵宇亮、白春礼发现<sup>[17]</sup>,当在生理盐水溶液中尺寸小于 100nm 的磁性纳米颗粒进入动物体内时能导致凝血现象,聚集形成小鼠血管大小的颗粒,堵塞小鼠血管,最后导致小鼠死亡.这说明这种纳米颗粒进入人体可能会导致心血管疾病.在纳米碳管与肺巨嗜细胞相互作用的研究中发现,纳米碳管很容易进入细胞,在  $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$  的浓度下,它对肺巨嗜细胞的吞噬起促进作用;但在  $20\mu\text{g}/\text{ml}$  时,它会严重损害细胞,导致肺巨嗜细胞的吞噬能力下降.美国科学家将  $0.1\text{mg}$  的碳纳米管通过气管注入大鼠体内,90 天后病理学检查发现,这些碳纳米纤维均进入肺泡,并引起肺部肉芽肿(类似肺结核前期的病理变化)的形成.更令人担心的是,由这些纤维引起的肉芽肿,与常规的粉尘如石棉致肺部损伤不同,没有肺部炎症和细胞增生的表现.这预示碳纳米管的毒性不同于常规物质,它具有新的致肺损伤机制<sup>[9]</sup>.

邢更妹<sup>[16]</sup>在研究  $\text{Gd}@C_{82}$  在造影剂的应用中,发现  $\text{Gd}@C_{82}(\text{OH})_{22}$  引起小鼠静脉栓塞,导致小鼠

死亡,死亡率为 72%。分析引起静脉栓塞的原因,认为富勒烯醇的多羟基结构与糖蛋白及多糖结构类似,能与红细胞上的糖蛋白受体发生类似于细胞凝聚素的反应,引起红细胞的聚合。同时,金属富勒烯在 pH = 7.3 左右的血液环境中也能发生聚合,形成较大直径的分子聚合体,聚合的红细胞及富勒烯引起静脉中血流状况的改变,血流速度变慢,使血小板从血流的内部到外部,血小板与血管壁直接接触,启动凝血,导致小鼠死亡。对死亡大鼠的多脏器病理切片检查的结果表明,病变主要发生在肺、肾、脑。它们的这种病变与脏器的缺氧有关。研究将金属富勒烯用作磁共振对比剂,实验中发现,羟基富勒烯与羧基富勒烯在小鼠体内的吸收途径是不同的,而这些不同是碳笼外接官能团的性质不同造成的,因此不同的衍生化官能团,将产生不同的生物活性和不同的毒性<sup>[16]</sup>。

北京大学化学与分子工程学院化学生物学系的王海芳<sup>[20]</sup>用碘-125 示踪技术研究水溶性单壁碳纳米管在小鼠体内 1 小时到 18 天的分布,发现水溶性多羟基化单壁碳纳米管(SWNTols)能非常容易、迅速地分布到小鼠的各种组织和脏器,但不能跨越血脑屏障。换句话说,在给药后 1 小时,小鼠全身各处都能测到碳纳米管。为了能够更深入地了解它进入生物体初始阶段分布的情况,她们用类似的研究方法给出了两种给药方式(腹腔注射和静脉注射)下,1 小时内 SWNTols 在小鼠体内的分布。实验结果表明(1)除了脑外,在 2 分钟内,不论通过静脉注射或是腹腔注射,SWNTols 能够达到小鼠全身各处。说明 SWNTols 在小鼠体内的运动速率较慢,而且非常容易穿越各区室。(2)大多数组织和器官并不积累 SWNTols,它随着血液浓度的减小而迅速减少。(3)从 SWNTols 在脑中的分布情况看,SWNTols 不能穿越血脑屏障而在脑中累积。(4)SWNTols 似乎不能进入红细胞,因此不在血液中长时间滞留。SWNTols 的生物相容性非常好<sup>[11]</sup>。

罗切斯特大学的科学家让大鼠在含有 20nm 聚四氟乙烯颗粒中暴露 15 分钟,大多数大鼠在 4 小时内死亡。而暴露在尺寸大于 120nm 的聚四氟乙烯颗粒中的大鼠却没有明显的变化,安然无恙。他们还让小鼠通过呼吸系统吸入直径为 35nm 的碳粒子,然后探测碳粒子在老鼠体内的运动。他们发现在进入老鼠体内 1 天后便出现在大脑中处理嗅觉的区域—嗅球上。同时,随着时间的增长,纳米粒子在嗅球中的含量不断增加,但是他们并不知道进入大脑的这

些纳米粒子的聚集会带来什么样的影响。

美国的杜邦公司(D. Warhait)和 C. Lam (NASA)在 2003 年将碳纳米管(SWNTs)注入大鼠的气管,发现引起大鼠肺部的肉芽瘤。罗切斯特大学的 G. Oberdoster 等人将大鼠暴露于含 20nm Teflon 的空气中 15 分钟,发现多数大鼠在 4 小时内死亡。他还对 TiO<sub>2</sub>, Pt, C 等纳米粒子的生理和细胞毒性进行了系统的研究;南卫理会大学的 E. Oberdoster 在 2004 年将 C<sub>60</sub>通过大嘴鲈鱼的嗅觉神经系统进入脑部,发现对脑组织有损害。

上述结果表明这些纳米材料都能和生物体相互作用,有些纳米物质的影响是较大的,对生物的整体特性和动物的健康有较重的影响。这是我们应该引起严重注意的。

以上为纳米材料对生物的负效应,它的机理还有待进一步的研究。在看到纳米材料负面效应的同时,对纳米材料的积极一面也不可忽视。纳米材料具有如此多的优异性能,在生物医学上有广阔的用途,如细胞分离、细胞内部染色、纳米药物控释材料、纳米抗菌材料及创伤敷料、纳米颗粒中药及保健品、人骨组织修复材料、生物活性材料等。纳米颗粒正在用来作为蛋白质的载体如抗体,而纳米颗粒的这种结合能力也表明,它一旦注入体内,就会与体内的天然蛋白质发生结合,从而干扰血液和细胞中蛋白质的功能,从而实际上减弱本来想利用纳米颗粒实现的药物载体的作用。作为医疗用途的纳米颗粒如果被注入或者吸入到体内,那么这些危害很有可能发生,其他的生物如细菌和原生物,可以通过细胞膜吸收纳米颗粒,从而使其进入食物链,最后进入人体。

我们把纳米氧化钛和有机材料结合制成纤维,用这些纤维对动物进行了实验。选择了昆明种小鼠 40 只,随机分成两组(实验组和对照组),每组 20 只,雌雄各半。实验组用纳米氧化钛纤维铺垫,普通组用普通纤维铺垫,遮盖饲养笼具,每天铺垫,遮盖 16 小时,连续 7 天,在第 8 天进行实验测定。测定了小鼠的抗缺氧能力,通过爬杆和游泳检验其抗疲劳能力;取眼球血测定白血球总数和分类的改变,我们还测定了其外周血液淋巴细胞周期的影响。结果发现小鼠与纳米氧化钛纤维接触一定时间后存在耐缺氧作用的能力;小鼠游泳实验表明纳米氧化钛具有一定抵抗蛋白质在运动后的分解效应,但无加速运动后乳酸消除的作用;爬杆实验表明具有一定抵抗蛋白质在运动后的分解效应和加速运动后乳酸消除的作用,表现出抗疲劳作用;未观测到对白血球总数

和分类的影响,但存在一定抗免疫损伤作用;未观测到对外周血液淋巴细胞周期有所影响。

我们将进一步做纳米氧化钛光催化灭菌的定量测定和适用范围的研究。

参 考 文 献

[ 1 ] 吴大诚,杜仲良等编. 纳米纤维. 北京:化学工业出版社, 2003. 1

[ 2 ] 张中太,林元华等. 材料工程. 2000, 23( 5 ):42

[ 3 ] 金一和,孙鹏等. 自然杂志, 2002, 23( 5 ):306

[ 4 ] 赵强,庞小峰. 原子分子物理学报. 2005, 22: 222

[ 5 ] 庞小峰,赵强,刘乐维等. 纳米材料的生物效应及其应用. 见:第 243 次香山科学会议:纳米尺度的生物效应( 纳米安全性)论文集. 北京, 2004, 39—42

[ 6 ] Pang X F, Liu L W, Zhao Q. The biological toxicity of the carbon nanotubes. Proc. of International Conf. of Chinanano 2005. Beijing, 2005, 274

[ 7 ] Pang X F, Liu L W, Zhao Q et al. Biological effects of the carbon nanotubes, The 27th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Shanghai, 2005, 365

[ 8 ] Pang X F, Liu L W, Zhao Q. The biological effect of the nano-TiO<sub>2</sub> and its oxicity. Proc. of International Conf. of Chinanano 2005. Beijing, 2005, 278

[ 9 ] Pang X F, Deng B, Zhao Q. Physical properties of nanoTiO<sub>2</sub> powder. Proc. of International Conf. of Chinanano 2005. Beijing, 2005, 153

[ 10 ] Pang X F, Liu L W, Liu Z H et al. The biological effect of the

nanoTiO<sub>2</sub> and its toxicity. The 27th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Shanghai, 2005, 365

[ 11 ] 许海燕,孔桦等. 国外医学生物医学工程分册. 1998, 21( 5 ):262

[ 12 ] 司徒镇强,吴军正主编. 细胞培养. 北京;世界图书出版公司, 1996. 1

[ 13 ] 中华人民共和国国家标准 GB/T16886. 51997( 医疗器械生物学评价 第 5 部分:细胞毒性试验:体外法)

[ 14 ] Zhao Q, Pang X F. Biological effect of nano-iron oxide and its hydrate, Proc. of International Conf. of Chinanano 2005, Beijing, 138

[ 15 ] 李光. 部分纳米材料生物效应的初步研究. 见:第 243 次香山科学会议:纳米尺度的生物效应( 纳米安全性)论文集. 北京, 2004, 38

[ 16 ] 邢更妹. 碳纳米材料的生物效应研究及医学诊断中的应用. 第 243 次香山科学会议:纳米尺度的生物效应( 纳米安全性)论文集, 北京 2004, 38

[ 17 ] 赵宇亮,白春礼. 纳米尺度物质于生命体相互作用过程中产生的新科学问题. 见:第 243 次香山科学会议:纳米尺度的生物效应( 纳米安全性)论文集. 北京, 2004, 3—7

[ 18 ] Qi T, Pang X F, Lu L W et al. The influences of nanomaterial Ni-Zn ferrite powders on the function of blood and cells of rat, Proc. 4<sup>th</sup> Inter. Conf. on Electromagnetic fields and Biological effects. Kunming, 2005, 98

[ 18 ] 许海燕. 纳米结构物质对血液和免疫系统作用的初步探索. 见:第 243 次香山科学会议:纳米尺度的生物效应( 纳米安全性)论文集. 北京, 2004, 12

[ 19 ] 王海芳. 水溶性单壁碳纳米管在小鼠体内的快速分布. 见:第 243 次香山科学会议:纳米尺度的生物效应( 纳米安全性)论文集. 北京, 2004, 28—30





# 北京欧普特科技有限公司

光学元件库—欧普特科技

欢迎访问: [www.goldway.com.cn](http://www.goldway.com.cn)

北京欧普特科技有限公司严格参照国际通常规格及技术指标, 备有完整系列的精密光学零部件( 备有产品样本供参考) 供国内各大专院校、科研机构、实验室随时选用, 我公司同时可为您的应用提供技术咨询. 我公司可以提供美国及欧洲产的优质红外光学材料, 如硒化锌、硫化锌、多光谱硫化锌等.



- 光学透镜: 平凸、双凸、平凹、双凹、消色差胶合透镜等.
- 光学棱镜: 各种规格直角棱镜及其他常用棱镜.
- 光学反射镜: 各种尺寸规格的镀铝、镀银、镀金及介质反射镜, 直径 5mm—200mm.
- 光学窗口: 各种尺寸规格、材料的光学平面窗口, 平晶, 直径 5mm—200mm.
- 各种有色玻璃滤光片: 规格为直径 5mm—200mm ( 紫外、可见、红外) 及窄带干涉滤片.
- 紫外石英光纤: 进口紫外石英光纤, SMA 接口光纤探头, 紫外石英聚焦探头.

地址: 北京市海淀区知春路 49 号希格玛大厦 B 座 306 室  
 电话: 010-88096218/88096217 传真: 010-88096216 网址: [www.goldway.com.cn](http://www.goldway.com.cn)  
 联系人: 徐勇小姐 陈锵先生 施楠小姐  
 Email: [xuyong@goldway.com.cn](mailto:xuyong@goldway.com.cn) [kevinchen@goldway.com.cn](mailto:kevinchen@goldway.com.cn) [shinan@goldway.com.cn](mailto:shinan@goldway.com.cn)